

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2020.19307

纳米硒对齐口裂腹鱼生长、肌肉成分、血清生化及抗氧化指标的影响

李彦红, 张飞飞, 黄丽娟, 石艳平, 王依, 廖茂雯, 邬应龙

四川农业大学食品学院, 四川 雅安 625014

摘要: 为研究纳米硒(nano-selenium, Nano-Se)对齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)生长性能、肌肉成分、血清生化指标及抗氧化性能的影响, 在基础饲料中分别添加 0.0 mg/kg、0.2 mg/kg、0.4 mg/kg、0.8 mg/kg 纳米硒, 分别饲喂体重为(98.75±5.74) g 的齐口裂腹鱼 8 周。结果表明, 与对照组相比, 不同添加剂量纳米硒均增加齐口裂腹鱼的特定生长率和肠体指数, 降低饵料系数($P<0.05$)。日粮添加 0.4 mg/kg 和 0.8 mg/kg 纳米硒显著增加齐口裂腹鱼肠长比, 提高肌肉中粗蛋白含量($P<0.05$)。另外, 纳米硒各剂量组鱼体血清球蛋白、总胆固醇和甘油三酯含量, 超氧化物歧化酶活性均显著升高, 丙二醛和葡萄糖含量显著降低($P<0.05$)。日粮添加 0.4 mg/kg 和 0.8 mg/kg 的纳米硒时, 血清谷胱甘肽过氧化物酶活性显著增加; 日粮添加 0.8 mg/kg 的纳米硒, 血清一氧化氮合酶活性和肌肉硒含量显著增加($P<0.05$)。综上, 在促进齐口裂腹鱼的生长发育、改善肌肉品质以及提高血清抗氧化性能方面, 3 种剂量的纳米硒均产生了一定的影响, 基于特定生长率的二次回归模型拟合, 获得齐口裂腹鱼饲料中纳米硒最适添加量为 0.52 mg/kg, 综合考虑对生长性能和抗氧化能力的影响, 推荐齐口裂腹鱼饲料中纳米硒的添加量为 0.5 mg/kg。

关键词: 纳米硒; 齐口裂腹鱼; 生长性能; 肌肉成分; 抗氧化

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2020)06-0682-10

随着社会经济的发展, 水产养殖业也迅速发展, 但是水产养殖的高密度对鱼体产生了潜在的环境压力, 使鱼体抵抗能力下降, 更容易感染疾病, 给鱼类带来巨大的经济损失^[1-2]。硒(Se)是人与动物必不可少的微量元素, 并且是谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase, GSH-Px)等的组成部分和活性中心, 可以保护细胞膜免受损伤, 在酶活性中发挥重要作用^[3]。硒可以以无机形式(硒酸盐、亚硒酸盐、金属硒化物、单质硒)和有机形式(硒代甲硫氨酸、硒代半胱氨酸、硒代胱氨酸)存在, 并且硒在最佳浓度和致毒浓度之间的安全限度非常狭窄^[4]。已有研究表明, 在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)中, 有机硒比无机硒具有更高的生物活性^[4], 在异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)中, 纳米硒与有机硒(硒代蛋氨酸)相比, 在提高肌肉硒含量方面更有效^[5]。Zhang 等^[6]通过小鼠急性毒性实验和慢性毒性实验研究表明, 纳米硒毒性低于亚硒酸钠。纳米硒(nano-selenium, Nano-Se)作为一种纳米单质硒, 粒径一般在 80 nm 以内, 因其比表面积大、表面活性中心多、生物利用度和生物活性高以及安全浓度宽而受到越来越多的关注^[7-8]。

齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)是中国特有的经济鱼类, 属鲤科(Cyprinidae), 俗称雅鱼, 是长江上游及其支流的一种亚冷水性底栖鱼类^[9]。其肉质鲜美, 营养丰富, 富含必需氨基酸和不饱和脂肪酸, 受到广大消费者的喜爱。近年来其野生种群数量急剧减少, 为保护和利用这一宝贵动

收稿日期: 2019-10-22; 修订日期: 2020-01-12.

基金项目: 四川省科技厅重点研发项目(2019YFN0048); 四川农业大学“211”工程双支计划项目(2016)(03571650).

作者简介: 李彦红(1993-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为功能性食品. E-mail: 2258110641@qq.com

通信作者: 邬应龙, 教授, 博士生导师. E-mail: wuyinglong99@163.com

物资源, 齐口裂腹鱼人工养殖迅速发展^[10]。目前已有关于硒在鱼类方面的相关研究, 如苏传福等^[11]研究表明, 与基础饲料组对比, 饲料中添加 0.6 mg/kg 硒后, 草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的特定生长率提高了 28.37%, 且鱼的肌肉中蛋白质的含量最高。Ashouri 等^[12]研究表明饲料中添加 0.5 mg/kg、1.0 mg/kg 纳米硒时, 鲤(*Cyprinus carpio*)的增重率比对照组显著增长, 且饲料中纳米硒添加量为 0.5 mg/kg 时, 鲤血清中的甘油三酯含量升高。此外还有研究表明饲料中添加 0.125 mg/kg、0.250 mg/kg、0.500 mg/kg 纳米硒对镉胁迫下吉富罗非鱼血清抗氧化功能的降低有一定的保护作用, 且呈现一定的剂量-效应关系^[13]。在鲤的饲料中添加 0.1 mg/kg、0.5 mg/kg、1.0 mg/kg 的纳米硒后, 对氟胁迫引起的鲤肝脏抗氧化功能损伤有一定保护作用^[14]。但是, 目前关于不同剂量纳米硒对齐口裂腹鱼的影响还未见报道。本实验在基础饲料中添加不同水平的纳米硒(0.2 mg/kg、0.4 mg/kg、0.8 mg/kg)来探究其对齐口裂腹鱼生长、肌肉成分及血清抗氧化功能的影响, 从而为齐口裂腹鱼营养饲料的开发提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

齐口裂腹鱼: 购买于雅安市雅鱼公司同一批鱼种。选择体质健康的鱼 400 尾, 体重(98.75±5.74) g, 用 20×10⁻⁶ 的 KMnO₄ 消毒 15 min, 均匀分配至鱼缸(50 cm×70 cm×40 cm)中驯养 15 d 备用。

1.2 实验原料

纳米硒、鱼粉、豆粕、面粉、菜油、麸皮、鱼用多维、胆碱、磷酸二氢钙、矿物质等。

1.3 实验试剂

总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、葡萄糖(glucose, Glu)、甘油三酯(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, TC)、一氧化氮合酶(induction nitric oxide synthase, iNOS)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-P_X) 试剂盒购买于南京建成生物工程研究所; 冰醋酸、盐酸、无水

乙醇等均为分析纯。

1.4 实验仪器

BT124S 型精密电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); DHG-9245A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); HH-4 型数显恒温水浴锅(金坛市富华仪器有限公司); UV-2802PC 紫外可见分光光度计(北京北科恒信科学器材有限公司); SZ-1 型旋涡混匀器(金坛市晶玻实验仪器厂); SW-CJ-IF 超净工作台(苏州净化设备有限公司); 微量移液器、5415D 高速离心机(德国 Eppendorf 公司); ST16R 型冷冻离心机(Thermo 公司); Flash 全波长扫描式多功能酶标仪(芬兰 Thermo scientific 公司); 7500 电感耦合等离子体质谱仪(7500 ICP-MS, 美国 Agilent Technologies 公司)。

1.5 饲料制备

齐口裂腹鱼饲料配方如表 1 所示。所有原料

表 1 饲料配方和营养成分表
Tab. 1 Composition and nutrient of the experimental diets %

原料 ingredient	组别 group			
	Se0	Se0.2	Se0.4	Se0.8
鱼粉 fish meal	42.00	42.00	42.00	42.00
面粉 flour	20.00	20.00	20.00	20.00
豆粕 soybean meal	21.00	21.00	21.00	21.00
淀粉 starch	10.00	10.00	10.00	10.00
Se/(mg/kg)	0	0.20	0.40	0.80
菜油 rapeseed oil	3.00	3.00	3.00	3.00
麸皮 bran	1.00	1.00	1.00	1.00
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.50	1.50	1.50	1.50
多维+胆碱 ^a	1.00	1.00	1.00	1.00
vitamin premix+choline chloride ^a				
矿物质 ^b mineral premix ^b	0.50	0.50	0.50	0.50
营养水平/% nutrient level				
Se 含量/(mg/kg) Se content	0.55	0.69	0.73	1.05
粗蛋白 crude protein	35.85	35.85	35.85	35.85
粗脂肪 crude lipid	8.19	8.19	8.19	8.19
总能/(MJ/kg) total energy	16.53	16.46	16.39	16.31

注: ^a 每 kg 饲料含维生素: VA 6000 IU, VD 1000 IU, VE 30 mg, VK₃ 0.46 mg, VB₁ 0.72 mg, VB₂ 5.76 mg, VB₆ 4.212 mg, 尼克酸 27.72 mg, 泛酸 27 mg, 生物素 0.16mg, VC 55.8 mg, 肌醇 58.8 mg, 氯化胆碱 700 mg. ^b 每 kg 饲料含矿物质: 锰 10 mg, 锌 30 mg, 铁 60 mg, 铜 3 mg, 碘 1 mg.
Note: ^a Vitamins provided per kg of diet: VA 6000 IU; VD 1000 IU; VE 30 mg; VK₃ 0.46 mg; VB₁ 0.72 mg; VB₂ 5.76 mg; VB₆ 4.212 mg; Niacin 27.72 mg; Pantothenic acid 27 mg; Biotin 0.16 mg; VC 55.8 mg; Inositol 58.8 mg; Choline chloride 700 mg. ^b Minerals provided per kg of diet: Mn 10 mg; Zn 30 mg; Fe 60 mg; Cu 3 mg; I 1 mg.

过 40 目筛,按饲料配方表制备基础饲料^[9];向基础饲料中分别添加 0.2 mg/kg、0.4 mg/kg、0.8 mg/kg 纳米硒,分别标记为 Se0.2、Se0.4、Se0.8 组,对照组中不添加纳米硒记为 Se0 组。将 4 组饲料配制成等氮等能试验饲料,充分混合后加工成直径为 1 mm 的颗粒状饲料,烘干后保存于-20 ℃冰箱中。测得饲料中硒含量(表 1)。

1.6 实验设计与饲养管理

齐口裂腹鱼饲喂基础饲料驯养 15 d 后,选择体质健康的齐口裂腹鱼 360 尾,随机分组称重后记录数据,按实验设计分为 4 个组,每个组分为 3 个重复,每个重复 30 尾,共 90 尾,每个重复组投入 1 个鱼缸,每天以体重 1.3% 的量投喂饲料,早中晚各 1 次。饲养期间用流水养殖,24 h 充氧保持水体溶氧量的稳定,每日换水两次,早晚各 1 次,实验期间保持水 pH 7.4~7.6,温度为 14~22 ℃。

1.7 生长及脏器免疫器官指数的测定

饲养 56 d 后进行采样,鱼体饥饿 24 h,测定体重、体长、体宽,解剖后取肝脏、脾脏、肠道、头肾、中肾,用无菌生理盐水清洗,然后将脏器用滤纸进行吸水处理,称取重量,其生长及生物学指标计算方法^[15]如下:

增重率(weight gain rate, WGR, %)=(终末体重-初始体重)/初始平均体重×100

特定生长率(specific growth rate, SGR, %)=(ln 终末体重-ln 初始体重)/饲养天数×100

肥满度(condition factor, CF, %)=(体重, g)/(体长, cm)³×100

肠长比(intestinal ratio, IR, %)=肠重/体重×100

存活率(survival rate, SR, %)=100×终末尾数/初始尾数

饵料系数(feed conversion ratio, FCR, %)=总投料量/(末体重-初体重)

头肾指数(head kidney index, HKI, %)=头肾重/体重×100

脾体指数(spleen index, SI, %)=脾脏重/体重×100

肝体指数(liver index, GI, %)=肝脏重/体重×100

中肾指数(mesonephros index, MI, %)=中肾

重/体重×100

肠体指数(intestinal weight index, IWI, %)=肠重/体重×100

1.8 肌肉成分的测定

将齐口裂腹鱼进行解剖,沿侧线分成背部肌肉(背脊)和腹部肌肉(腹肌)去除头尾和鱼皮,将鱼脊椎两边的肌肉全部剃下,无骨无刺,置于-20 ℃保存,进行鱼肉组成指标测定,测定方法参照食品安全国家标准 GB 5009.3-2016 食品中水分的测定;GB 5009.4-2016 食品中灰分的测定;GB 5009.5-2016 食品中蛋白质的测定;GB 5009.6-2016 食品中脂肪的测定。

1.9 血清生化及抗氧化指标的测定

每尾鱼进行尾静脉取血,将血液装入 2 mL 的无菌无酶的 EP 管中,4 ℃条件下静置 30 min,离心 10 min (3000 r/min, 4 ℃),收集上清液于新的无菌无酶 EP 管中,放入-80 ℃的冰箱中保存。参照南京建成生物工程试剂盒说明书测定血清中总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、葡萄糖(Glu)、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、一氧化氮合酶(iNOS)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)。

1.10 数据处理

实验数据采用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA),多重比较采用 Duncan's 法,结果以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 纳米硒对齐口裂腹鱼生长性能的影响

由表 2 可知,与基础组对比,日粮添加 0.2 mg/kg、0.4 mg/kg、0.8 mg/kg 纳米硒显著提高了齐口裂腹鱼的特定生长率($P < 0.05$),降低了饵料系数($P < 0.05$),对肥满度无显著影响($P > 0.05$)。日粮添加 0.2 mg/kg 的纳米硒显著提高了齐口裂腹鱼的增重率($P < 0.05$)。日粮添加 0.4 mg/kg 和 0.8 mg/kg 纳米硒显著提高了齐口裂腹鱼的肠体比($P < 0.05$)。基于特定生长率的二次回归模型拟合,获得齐口裂腹鱼饲料中纳米硒的最适添加量为 0.52 mg/kg (图 1)。

表 2 纳米硒对齐口裂腹鱼生长指标的影响
Tab. 2 The effect of nano-selenium on growth of *Schizothorax prenanti*

n=10; $\bar{x} \pm SD$

参数 index	组别 group			
	Se0	Se0.2	Se0.4	Se0.8
肥满度/% condition factor, CF	1.60±0.13 ^a	1.58±0.11 ^a	1.57±0.12 ^a	1.56±0.04 ^a
肠长比/% intestinal ratio, IR	180.51±8.26 ^a	202.40±4.61 ^{ab}	216.59±5.56 ^b	219.72±10.44 ^b
增重率/% WGR	23.43±0.62 ^a	30.11±0.26 ^b	29.07±3.01 ^{ab}	29.16±1.84 ^{ab}
特定生长率/% SGR	0.30±0.01 ^a	0.38±0.00 ^b	0.36±0.03 ^b	0.37±0.02 ^b
饵料系数 FCR	1.11±0.07 ^b	0.87±0.01 ^a	0.88±0.07 ^a	0.89±0.07 ^a
成活率/% survival rate, SR	99.00±1.00 ^a	98.27±1.73 ^a	98.00±2.00 ^a	97.45±2.55 ^a

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).
Note: Values in each row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

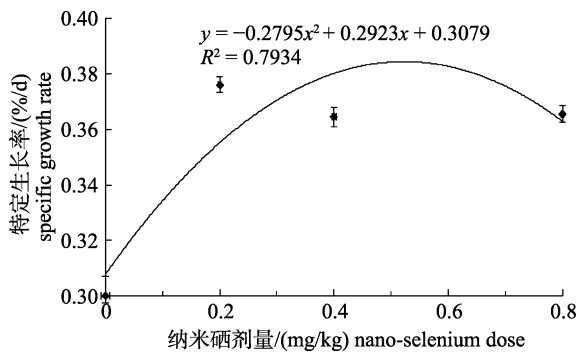


图 1 基于特定生长率对饲料中纳米硒添加量的二次回归分析

Fig. 1 Quadratic regression analysis of specific growth rate against dietary nano-selenium supplemental level

2.2 纳米硒对齐口裂腹鱼免疫器官指数的影响

由表 3 可知, 与基础组对比, 日粮添加 0.2 mg/kg 纳米硒显著提高了齐口裂腹鱼的头肾指数和脾体指数(P<0.05)。日粮添加 0.2 mg/kg 和 0.4 mg/kg 纳米硒显著提高了齐口裂腹鱼的肠体指数(P<0.05), 其他均无显著性影响。

表 3 纳米硒对齐口裂腹鱼免疫器官指数的影响
Tab. 3 The effect of nano-selenium on immune organ indexes of *Schizothorax prenanti*

n=10; $\bar{x} \pm SD$; %

参数 index	组别 group			
	Se0	Se0.2	Se0.4	Se0.8
头肾指数 HKI	0.05±0.00 ^a	0.07±0.01 ^b	0.06±0.00 ^a	0.053±0.02 ^a
脾体指数 SI	0.15±0.01 ^a	0.15±0.01 ^a	0.19±0.02 ^b	0.15±0.01 ^a
肝体指数 LI	1.75±0.08 ^a	1.53±0.01 ^a	1.53±0.03 ^a	1.62±0.04 ^a
中肾指数 MI	0.44±0.01 ^a	0.43±0.01 ^a	0.44±0.03 ^a	0.43±0.01 ^a
肠体指数 IWI	1.89±0.07 ^a	2.09±0.11 ^b	2.37±0.05 ^b	2.46±0.02 ^b

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).
Note: Values in each row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

2.3 纳米硒对齐口裂腹鱼肌肉组成的影响

由表 4 可知, 与基础组对比, 日粮添加 0.4 mg/kg 纳米硒显著降低了齐口裂腹鱼肌肉中水分含量(P<0.05), 而日粮添加 0.2 mg/kg、0.4 mg/kg、0.8 mg/kg 纳米硒均显著降低了鱼体肌肉中的脂肪含量(P<0.05), 各组灰分含量无显著差异(P>0.05)。日粮添

表 4 纳米硒对齐口裂腹鱼肌肉营养成分的影响
Tab. 4 The effect of nano-selenium on muscle proximate composition of *Schizothorax prenanti*

n=10; $\bar{x} \pm SD$; mg/kg

参数 index	组别 group			
	Se0	Se0.2	Se0.4	Se0.8
水分 moisture	80.848±0.149 ^b	80.631±0.333 ^{ab}	80.390±0.113 ^a	80.672±0.056 ^{ab}
灰分 ash	1.322±0.002 ^a	1.301±0.005 ^a	1.399±0.008 ^{ab}	1.320±0.005 ^a
脂肪 lipid	1.810±0.012 ^c	1.619±0.014 ^b	1.491±0.008 ^a	1.485±0.002 ^a
蛋白质 protein	20.970±0.137 ^{ab}	20.820±0.348 ^a	23.700±0.273 ^c	21.700±0.171 ^b

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异(P<0.05).
Note: Values in each row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

加 0.4mg/kg 和 0.8 mg/kg 纳米硒后,肌肉中的蛋白质含量显著升高($P<0.05$)。

2.4 纳米硒对齐口裂腹鱼血清常规生化指标的影响

由表 5 可知,与基础组对比,日粮添加 0.2 mg/kg、

0.4 mg/kg、0.8 mg/kg 纳米硒显著增加了齐口裂腹鱼血清球蛋白、甘油三酯和胆固醇含量($P<0.05$),显著降低了血清葡萄糖含量($P<0.05$)。日粮添加 0.8 mg/kg 纳米硒显著提高了齐口裂腹鱼血清白蛋白含量($P<0.05$)。

表 5 纳米硒对齐口裂腹鱼常规生化指标的影响
Tab. 5 The effect of nano-selenium on serum biochemical indexes of *Schizothorax prenanti*

n=10; $\bar{x}\pm SD$

参数 index	组别 group			
	Se0	Se0.2	Se0.4	Se0.8
球蛋白/(g/L) GLOB	4.93±0.08 ^a	21.72±0.05 ^c	11.38±0.06 ^b	12.12±0.03 ^b
白蛋白/(g/L) ALB	17.23±1.86 ^{ab}	15.43±0.01 ^a	19.21±0.82 ^{bc}	20.53±0.87 ^c
总蛋白/(g/L) TP	34.25±1.02 ^{ab}	36.68±0.39 ^b	29.27±0.81 ^a	31.20±1.06 ^a
葡萄糖/(mmol/L) Glu	6.17±0.05 ^b	4.35±0.15 ^a	4.23±0.15 ^a	4.19±0.17 ^a
甘油三酯/(g/L) TG	2.82±0.09 ^a	3.45±0.13 ^b	3.78±0.12 ^b	3.71±0.12 ^b
胆固醇/(g/L) TC	17.89±0.17 ^a	21.78±0.47 ^b	21.14±0.33 ^b	26.47±0.52 ^c

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$).
Note: Values in each row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.5 纳米硒对齐口裂腹鱼血清抗氧化指标的影响

由图 2 可知,随着纳米硒含量的增加,齐口裂腹鱼血清超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和一氧化氮合酶(iNOS)活性也呈现增加的趋势。与基础组对比,日粮添加 0.2 mg/kg、

0.4 mg/kg、0.8 mg/kg 纳米硒显著增加了血清 SOD 活性,显著降低了血清丙二醛(MDA)含量($P<0.05$)。日粮添加 0.4 mg/kg、0.8 mg/kg 纳米硒显著增加了血清 GSH-Px 活性,而 0.8 mg/kg 纳米硒可显著增加血清 iNOS 活性。

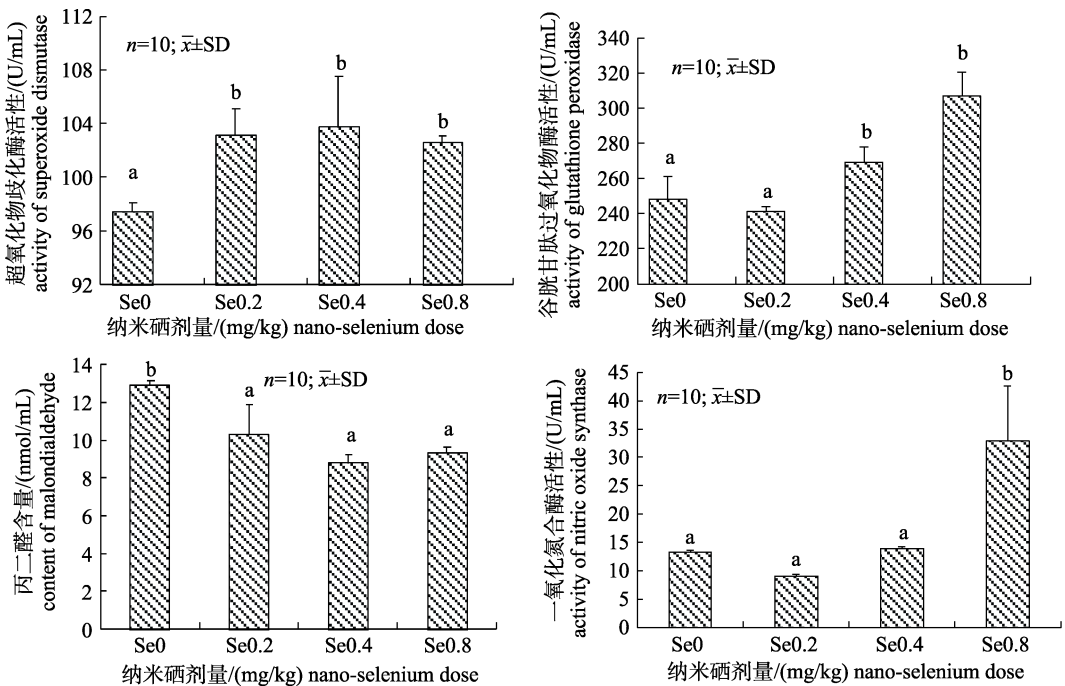


图 2 纳米硒对齐口裂腹鱼血清抗氧化指标的影响
柱形图上字母不同表示差异显著($P<0.05$).

Fig. 2 The effect of nano-selenium on serum antioxidant indexes of *Schizothorax prenanti*
Different letters on the column indicate significant difference ($P<0.05$).

2.6 纳米硒对齐口裂腹鱼肌肉硒含量的影响

由图 3 可知, 随着纳米硒含量水平的增加, 肌肉中硒的含量也呈现递增的趋势, 并且在 0.8 mg/kg 时, 肌肉中硒的含量显著高于基础组($P<0.05$)。

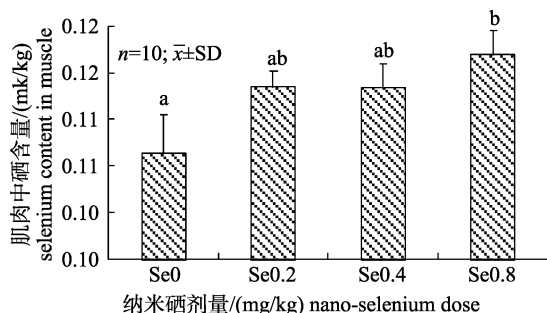


图 3 纳米硒对齐口裂腹鱼肌肉硒含量的影响
柱形图上方字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

Fig. 3 The effect of nano-selenium on muscle selenium content of *Schizothorax prenanti*
Different letters on the column indicate significant difference ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 纳米硒对齐口裂腹鱼生长的影响

硒是鱼类正常生长发育的重要元素^[16]。Zhou 等^[5]以纳米硒作为基础饲料饲喂异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*), 结果提高了鱼的相对增重率和末重。王彦波等^[17]研究表明, 与对照组相比, 0.5 mg/kg 纳米硒能够显著提高鲫 (*Carassius auratus*) 最终体重和增重率。另外, 有研究表明在幼年军曹鱼 (*Rachycentron canadum*)^[18]、鲤 (*Cyprinus carpio*) 等^[12]饲料中添加纳米硒, 具有促进生长性能、降低饵料系数等作用。Nugroho 等^[19]研究表明纳米硒能够提高马龙鳌虾 (*Cherax Cainii-Marron*) 肠道吸收率, 改善消化系统。本研究结果表明, 与基础组对比, 日粮添加 3 种剂量的纳米硒显著提高齐口裂腹鱼的特定生长率, 降低了饵料系数; 日粮添加 0.2 mg/kg 的纳米硒显著提高齐口裂腹鱼的增重率。由此认为可能是纳米硒改善了鱼体的肠道吸收能力, 进一步促进了齐口裂腹鱼的生长。

3.2 纳米硒对齐口裂腹鱼免疫器官指数的影响

有研究表明纳米硒可以提高机体免疫应答能力, 提高机体抗病能力^[13-14]。免疫器官指数是衡量鱼类免疫能力的指标, 一般免疫器官指数越大,

机体免疫能力越强^[20-21]。在 Saffari 等^[22]的研究中, 喂食纳米硒饲料的鱼比对照组具有更大的肠绒毛周长和高度, 认为纳米硒可以维持肠道的完整性, 保护覆盖绒毛的肠上皮细胞。本实验中, 日粮添加 3 种剂量的纳米硒显著增加齐口裂腹鱼肠体指数。日粮添加 0.2 mg/kg 的纳米硒可以显著增加齐口裂腹鱼头肾指数, 当日粮添加纳米硒为 0.4 mg/kg 时, 齐口裂腹鱼脾体指数显著增加, 起到增强免疫的效果。

3.3 纳米硒对齐口裂腹鱼肌肉组成的影响

鱼体肌肉组成成分是评价鱼体营养状况的重要内容^[23]。本实验中, 日粮添加 0.4 mg/kg 和 0.8 mg/kg 纳米硒时, 齐口裂腹鱼肌肉中蛋白质含量显著高于基础组。当日粮添加 3 种剂量的纳米硒时, 鱼体肌肉脂肪含量显著降低。陈春秀等^[24]的研究表明, 饲料中纳米硒的水平为 0.8 mg/kg 时, 半滑舌鳎幼鱼 (*Cynoglossus semilaevis* Gunther) 鱼体的蛋白质效率显著高于对照组。侍苗苗等^[25]研究发现, 与对照组相比, 添加 0.2mg/kg 纳米硒能显著提高中华绒鳌蟹 (*Eriocheir sinensis*) 粗蛋白含量。de Riu 等^[26]和 Tashjian 等^[27]研究白鲟 (*Acipenser transmontanus*) 幼鱼发现随着饲料硒含量的增加, 鱼体脂肪含量降低。笔者推测是由于纳米硒的比表面积大, 齐口裂腹鱼对纳米硒具有较高的吸收利用率, 从而加快齐口裂腹鱼蛋白质合成, 降低脂肪沉积。而 Ashouri 等^[12]的研究表明, 饲料中添加 0.5 mg/kg、1.0 mg/kg 纳米硒时, 鲤肌肉的蛋白质、脂肪含量并无显著变化, 可能是实验鱼的种类规格和鱼的初期生长速度不同所致, 需要进一步的研究。

3.4 纳米硒对齐口裂腹鱼血清常规生化指标的影响

血清总蛋白 (TP) 主要由肝实质细胞合成, 被用作鱼类健康、免疫能力、压力和营养状况的广泛临床指标, 球蛋白主要反映动物的免疫状态^[28]。血脂血糖水平与机体的代谢和营养水平有密切联系, 这些物质的动态平衡对机体的健康非常重要^[29]。有研究表明血清中的甘油三酯 (TG) 和胆固醇 (TC) 与硒水平呈正相关^[30]。另外, 有研究在基础饲料中添加不同剂量的纳米硒饲喂鲤, 结果显示添加

2 mg/kg 的纳米硒饲料的鱼血清 TP、球蛋白(GLOB)明显升高, TG 无显著差异^[12]。本实验研究表明, 日粮添加 3 种剂量纳米硒显著增加了齐口裂腹鱼血清 GLOB、TG 和 TC 含量, 显著降低了血清葡萄糖(Glu)含量。日粮添加 0.8 mg/kg 纳米硒显著提高了齐口裂腹鱼血清白蛋白(ALB)含量, 表明饲料中添加纳米硒有助于加快齐口裂腹鱼体内代谢循环, 改善其营养和免疫状况。

3.5 纳米硒对齐口裂腹鱼抗氧化酶活性的影响

机体中的超氧化物歧化酶(SOD)是一种酶, 它能够催化超氧化物阴离子自由基歧化为 H_2O_2 和 O_2 , 其活性越高, 自由基清除能力越强^[31]。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)是体内清除氧自由基的主要抗氧化酶, 可以催化脂类氢过氧化物, 促进 H_2O_2 分解^[32]。丙二醛(MDA)是脂质氧化的最终产物, 也是被广泛应用的脂质过氧化指标^[33]。诱导型一氧化氮合酶(iNOS)是介导炎症反应的重要酶, 适量升高会增强机体的免疫功能^[34]。硒在抗氧化防御系统中起着重要作用, 可以清除机体自由基, 保护机体免受损害^[35]。Huang 等^[36]研究表明, 与基础组对比, 0.5mg/kg 纳米硒能够提高草鱼血清 GSH-Px 和 SOD 活性, 显著降低血清 MDA 含量。硒可以通过 GSH-Px 酶促反应使过氧化物还原成无毒的醇或水, 直接清除自由基, 保护细胞和细胞器膜结构的功能性及完整性, 不受过氧化物和氧化物的损害^[36-37]。本实验结果表明, 日粮添加 3 种剂量纳米硒时, 齐口裂腹鱼血清 SOD 活性显著增加, MDA 含量显著降低。日粮添加 0.4 mg/kg、0.8 mg/kg 纳米硒显著增加齐口裂腹鱼血清 GSH-Px 活性, 0.8 mg/kg 纳米硒显著增加齐口裂腹鱼血清 iNOS 活性。这与 Hao 等^[38]和 Kohshahi 等^[39]的实验结果一致, 可能纳米硒是 GSH-Px、硫氧还蛋白还原酶(TrxR)、脱碘酶(ID)等多种酶的活性中心的关键组成成分, 在体内可迅速转化为硒代半胱氨酸, 使血液、组织中 GSH-Px 活力升高, 分解过氧化物和修复分子损伤, 减少自由基的潜在性损伤, 提高机体抗氧化性能^[40]。

3.6 纳米硒对齐口裂腹鱼肌肉硒含量的影响

近年来, 已有研究证明饲料中补充纳米硒对罗非鱼^[13]、鲤^[14]等鱼类的生长、健康均有益。陈

春秀等^[24]研究表明纳米硒能增加半滑舌鳎幼鱼(*Cynoglossus semilaevis* Gunther)肝胰脏、肌肉及全鱼中硒含量。Ashouri 等^[12]研究日粮添加不同剂量的纳米硒(0 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg、2 mg/kg)对鲤的影响, 结果表明, 与基础组对比, 纳米硒能显著提高鲤肝脏和肌肉中的硒含量。本实验结果表明随着饲料中纳米硒含量的增加, 齐口裂腹鱼肌肉中纳米硒的含量逐渐增加, 并且在添加量为 0.8 mg/kg 时达到显著增高, 与 Lin 等^[3]和 Han 等^[41]的实验结果一致。可能是纳米硒通过机体代谢途径和沉积机制转化成硒, 从而使齐口裂腹鱼肌肉硒含量增加。

4 结论

综上所述, 日粮添加 3 种水平的纳米硒能够促进齐口裂腹鱼的增重率和特定生长率, 降低饵料系数, 有效补充硒和蛋白质含量, 改善其肌肉品质和生长发育能力。在生化指标方面, 饲喂纳米硒也能不同程度地加快齐口裂腹鱼的代谢循环, 提高其抗氧化能力。基于特定生长率的二次回归模型拟合, 获得齐口裂腹鱼饲料中纳米硒最适添加量为 0.52 mg/kg, 综合考虑生长性能和抗氧化能力, 推荐齐口裂腹鱼饲料中纳米硒的添加量为 0.5 mg/kg。

参考文献:

- [1] Zhao J, Wang L. Changes in serum indices of *Schizothorax prenanti* challenged with *Aeromonas hydrophila*[J]. Fisheries Science, 2015, 34(3): 178-181. [赵静, 王利. 齐口裂腹鱼感染嗜水气单胞菌后血清指标的变化[J]. 水产科学, 2015, 34(3): 178-181.]
- [2] Yang Z F, Liu B, Xu P, et al. Effects of crowding stress on gene expression of antioxidant enzymes and Nrf2-Keap1 signaling pathway in different tissues of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) for in-pond raceway aquaculture systems[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(2): 232-241. [杨震飞, 刘波, 徐跑, 等. 池塘工业化跑道式循环水高密度应激对团头鲂组织抗氧化酶及其 Nrf2-Keap1 信号通路的影响[J]. 中国水产科学, 2019, 26(2): 232-241.]
- [3] Lin Y H, Shiau S Y. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*[J]. Aquaculture, 2005, 250(1-2): 356-363.

- [4] K   kbay F Z, Yazlak H, Karaca I, et al. The effects of dietary organic or inorganic selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under crowding conditions[J]. Aquaculture Nutrition, 2009, 15(6): 569-576.
- [5] Zhou X X, Wang Y B, Gu Q, et al. Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. Aquaculture, 2009, 291(1-2): 78-81.
- [6] Zhang J S, Wang X F, Xu T W. Elemental selenium at nano size (nano-Se) as a potential chemopreventive agent with reduced risk of selenium toxicity: Comparison with Se-methylselenocysteine in mice[J]. Toxicological Sciences, 2008, 101(1): 22-31.
- [7] Jia X, Li N, Chen J. A subchronic toxicity study of elemental Nano-Se in Sprague-Dawley rats[J]. Life Sciences, 2005, 76(17): 1989-2003.
- [8] Forootanfar H, Adeli Sardou M, Nikkhoo M, et al. Antioxidant and cytotoxic effect of biologically synthesized selenium nanoparticles in comparison to selenium dioxide[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2014, 28(1): 75-79.
- [9] Zheng Q R, Wu Y L, Xu H L, et al. Immune responses to *Aeromonas hydrophila* infection in *Schizothorax prenanti* fed with oxidized konjac glucomannan and its acidolysis products[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2016, 49: 260-267.
- [10] Zhou B, Long Z H, He B. Study on reproductive biology of *Schizothorax prenanti*[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2013, 26(2): 811-813. [周波, 龙治海, 何斌. 齐口裂腹鱼繁殖生物学研究[J]. 西南农业学报, 2013, 26(2): 811-813.]
- [11] Su C F, Luo L, Wen H, et al. Effects of dietary selenium on growth performance, quality and digestive enzyme activities of grass carp[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2007, 16(2): 124-129. [苏传福, 罗莉, 文华, 等. 硒对草鱼生长、营养组成和消化酶活性的影响[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(2): 124-129.]
- [12] Ashouri S, Keyvanshokoo S, Salati A P, et al. Effects of different levels of dietary selenium nanoparticles on growth performance, muscle composition, blood biochemical profiles and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Aquaculture, 2015, 446: 25-29.
- [13] Qin F J, Jin J, Gu H J, et al. Effect of nanometer selenium on nonspecific immunity and antioxidant of *GIFT* stressed by cadmium[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011, 30(6): 1044-1050. [秦粉菊, 金璘, 顾华杰, 等. 纳米硒对鳊胁迫下吉富罗非鱼非特异性免疫和抗氧化功能的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(6): 1044-1050.]
- [14] Chen J J, Cao J L, Luo Y J, et al. Effects of nano-selenium on antioxidant capacity and histopathology of *Cyprinus carpio* liver under fluoride stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, 24(10): 2970-2976. [陈剑杰, 曹谨玲, 罗永巨, 等. 纳米硒对氟胁迫下鲤鱼肝抗氧化功能及组织结构的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(10): 2970-2976.]
- [15] Wang X F, Li X Q, Leng X J, et al. Effects of dietary cottonseed meal level on the growth, hematological indices, liver and gonad histology of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Aquaculture, 2014, 428-429: 79-87.
- [16] Hamilton S J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain[J]. Science of the Total Environment, 2004, 326(1-3): 1-31.
- [17] Wang Y B, Song D F. Biological effect of basal diet supplemented with selenium from different sources on crucian carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. Feed Industry, 2011, 32(14): 37-40. [王彦波, 宋达峰. 不同来源硒对异育银鲫的生物学效应研究[J]. 饲料工业, 2011, 32(14): 37-40.]
- [18] Yang Y Z, Nie J Q, Tan B P, et al. Effects of selenium source and selenium level on growth performance, liver and serum antioxidant indices and selenium content in tissues of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(12): 3894-3904. [杨原志, 聂家全, 谭北平, 等. 硒源与硒水平对军曹鱼幼鱼生长性能、肝脏和血清抗氧化指标及组织硒含量的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(12): 3894-3904.]
- [19] Nugroho R A, Fotedar R. Effects of dietary organic selenium on immune responses, total selenium accumulation and digestive system health of marron, *Cherax cainii* (Austin, 2002)[J]. Aquaculture Research, 2015, 46(7): 1657-1667.
- [20] Zhang Q F, Li Y W, Liu Z H, et al. Exposure to mercuric chloride induces developmental damage, oxidative stress and immunotoxicity in zebrafish embryos-larvae[J]. Aquatic Toxicology, 2016, 181: 76-85.
- [21] Yuan S S, Lv Z M, Zhu A Y, et al. Negative effect of chronic cadmium exposure on growth, histology, ultrastructure, antioxidant and innate immune responses in the liver of zebrafish: Preventive role of blue light emitting diodes[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, 139: 18-26.
- [22] Saffari S, Keyvanshokoo S, Zakeri M, et al. Effects of dietary organic, inorganic, and nanoparticulate selenium sources on growth, hemato-immunological, and serum biochemical parameters of common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2018, 44(4): 1087-1097.
- [23] Zhao F, Zhuang P, Song C, et al. Amino acid and fatty acid

- compositions and nutritional quality of muscle in the pomfret, *Pampus punctatissimus*[J]. Food Chemistry, 2010, 118(2): 224-227.
- [24] Chen C X, Shang X D, M C, et al. Effect of nano-selenium on growth performance, body composition and selenium content of *Cynoglossus semilaevis* Gunther[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46(20): 180-183. [陈春秀, 尚晓迪, 马超, 等. 纳米硒对半滑舌鳎幼鱼生长、体成分组成和硒含量的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(20): 180-183.]
- [25] Shi M M, Qin F J, Yuan L X, et al. Effects of nano-Se on growth performance, selenium content and nutrient composition of Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*)[J]. Feed Industry, 2015, 36(10): 21-25. [侍苗苗, 秦粉菊, 袁林喜, 等. 纳米硒对中华绒螯蟹生长性能、硒含量和营养组成的影响[J]. 饲料工业, 2015, 36(10): 21-25.]
- [26] de Riu N, Lee J W, Huang S S Y, et al. Effect of dietary selenomethionine on growth performance, tissue burden, and histopathology in green and white sturgeon[J]. Aquatic Toxicology, 2014, 148: 65-73.
- [27] Tashjian D H, Teh S J, Sogomonyan A, et al. Bioaccumulation and chronic toxicity of dietary l-selenomethionine in juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*)[J]. Aquatic Toxicology, 2006, 79(4): 401-409.
- [28] Bunglavan S J, Garg A K, Dass R S, et al. Effect of supplementation of different levels of selenium as nanoparticles/sodium selenite on blood biochemical profile and humoral immunity in male Wistar rats[J]. Veterinary World, 2014, 7(12): 1075-1081.
- [29] Kraugerud O F, Penn M, Storebakken T, et al. Nutrient digestibilities and gut function in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with cellulose or non-starch polysaccharides from soy[J]. Aquaculture, 2007, 273(1): 96-107.
- [30] Ju W, Ji M, Li X, et al. Relationship between higher serum selenium level and adverse blood lipid profile[J]. Clinical Nutrition, 2018, 37(5): 1512-1517.
- [31] Muñoz M, Cedeño R, Rodríguez J, et al. Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*[J]. Aquaculture, 2000, 191(1-3): 89-107.
- [32] Qin J F, Chen H G, Cai W G, et al. Effects of di-n-butyl phthalate on the antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation level of *Perna viridis*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(7): 1878-1884. [秦洁芳, 陈海刚, 蔡文贵, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对翡翠贻贝抗氧化酶及脂质过氧化水平的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(7): 1878-1884.]
- [33] Stohs S J, Bagchi D, Hassoun E, et al. Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions[J]. Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology, 2001, 20(2): 77-88.
- [34] Murakami A. Chemoprevention with phytochemicals targeting inducible nitric oxide synthase[M]//Forum of Nutrition. Basel: KARGER, 2009: 193-203.
- [35] Sarkar B, Bhattacharjee S, Daware A, et al. Selenium nanoparticles for stress-resilient fish and livestock[J]. Nano-scale Research Letters, 2015, 10: 371.
- [36] HU J R, Wang G X, Sun Y P, et al. Effects of dietary sodium selenite and selenoyeast on growth performance, antioxidant responses and low temperature stress resistance of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2019, 43(11): 2394-2404. [胡俊茹, 王国霞, 孙育平, 等. 亚硒酸钠和酵母硒对黄颡鱼幼鱼生长性能、抗氧化能力及抗低温应激的影响[J]. 水产学报, 2019, 43(11): 2394-2404.]
- [37] Huang B, Zhang J, Hou J, et al. Free radical scavenging efficiency of Nano-Se *in vitro*[J]. Free Radical Biology & Medicine, 2003, 35(7): 805-813.
- [38] Hao X F, Ling Q F, Hong F S. Effects of dietary selenium on the pathological changes and oxidative stress in loach (*Parasemotilus dabryanus*)[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2014, 40(5): 1313-1323.
- [39] Kohshahi A J, Sourinejad I, Sarkheil M, et al. Dietary co-supplementation with curcumin and different selenium sources (nanoparticulate, organic, and inorganic selenium): Influence on growth performance, body composition, immune responses, and glutathione peroxidase activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2019, 45(2): 793-804.
- [40] Patrick L. Selenium biochemistry and cancer: A review of the literature[J]. Alternative Medicine Review, 2004, 9(3): 239-258.
- [41] Han D, Xie S, Liu M, et al. The effects of dietary selenium on growth performances, oxidative stress and tissue selenium concentration of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2011, 17(3): e741-e749.

Influence of dietary nano-selenium on growth, muscle composition, and serum biochemical and antioxidant indices of *Schizothorax prenanti*

LI Yanhong, ZHANG Feifei, HUANG Lijuan, SHI Yanping, WANG Yi, LIAO Maowen, WU Yinglong

College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

Abstract: The present study aimed to determine the effects of dietary nano-selenium (0.0 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.8 mg/kg) added to feed for eight weeks on growth, muscle composition, serum biochemical and antioxidant indices of *Schizothorax prenanti*. A total of 360 healthy *Schizothorax prenanti* individuals with similar body weight (98.75 ± 5.74 g) were randomly assigned to four groups with three replicates per group and 30 fish per replicate. Fish were starved for 24 h before sampling, and body weight, length, and width were prepared for measurement of growth indicators. The head, kidneys, spleen, liver, mesonephros, and intestines were prepared for the immune organ index. Muscle was prepared for body composition analysis. Blood samples were collected from the caudal vein and were used directly to assay indicators in the serum of *Schizothorax prenanti*. The results were as follows. Compared with the control group (basal diet), specific growth rate (SGR) and intestinal weight index (IWI) were increased, and feed conversion ratio (FCR) was decreased, with the increasing of supplement of nano-selenium ($P < 0.05$). Weight gain rate (WGR) also increased when diets were supplemented with 0.2 mg/kg nano-selenium. The intestinal ratio (IR) of *Schizothorax praenanti* was significantly increased when 0.4 mg/kg and 0.8 mg/kg nano-selenium was added ($P < 0.05$). Additionally, the crude protein content of muscles was significantly increased when 0.4 mg/kg and 0.8 mg/kg nano-selenium was added ($P < 0.05$). Compared with the control group, the serum globulin (GLOB), triglyceride (TG), and cholesterol (TC) content of the fish were significantly increased when diets were supplemented with different doses of nano-selenium ($P < 0.05$). At the same time, the serum superoxide dismutase (SOD) activity of fish was significantly increased, and the serum malondialdehyde (MDA) and glucose (Glu) content of fish were significantly decreased ($P < 0.05$) in the Se supplemental group. The serum glutathione peroxidase (GSH-Px) activity of *Schizothorax praenanti* was significantly increased when 0.4 mg/kg and 0.8 mg/kg nano-selenium was added to the diet. Serum nitric oxide synthase (iNOS) activity and muscle selenium content was significantly increased when 0.8 mg/kg nano-selenium was added. Taken together, the results showed that nano-selenium had certain effects on the growth and development of the fish, and that it improved muscle quality and serum antioxidant performance. The optimal levels of dietary nano-selenium supplement in *Schizothorax prenanti* were estimated to be 0.52 mg/kg using quadratic regression analysis based on specific growth rate. Through comprehensive consideration of growth performance, antioxidant status, and lipid metabolism, the supplement level of 0.5 mg/kg nano-selenium is recommended in diets of *Schizothorax prenanti*. This study provides a new theoretical basis for the development of nutritional feed for *Schizothorax prenanti*.

Key words: nano-selenium; *Schizothorax prenanti*; growth performance; muscle composition; antioxidant

Corresponding author: WU Yinglong. E-mail: wuyinglong99@163.com